

特 許 協 力 条 約

PCT

特許性に関する国際予備報告 (特許協力条約第二章)

(法第12条、法施行規則第56条)  
〔PCT36条及びPCT規則70〕

REC'D 02 DEC 2004

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 1513	今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP03/13259	国際出願日 (日.月.年) 16.10.2003	優先日 (日.月.年) 16.10.2002
国際特許分類 (IPC) Int.Cl <sup>7</sup> C12Q1/60, C12Q1/26, C12Q1/32, C12Q1/44, G01N 33/92, C07J 1/00		
出願人 (氏名又は名称) <b>協 和 メ デ ッ ク ス 株 式 会 社</b>		

- この報告書は、PCT35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。  
法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。
- この報告には次の附属物件も添付されている。
  - ☐ 附属書類は全部で \_\_\_\_\_ ページである。
    - ☐ 補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面の用紙 (PCT規則70.16及び実施細則第607号参照)
    - ☐ 第I欄4.及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙
  - ☐ 電子媒体は全部で \_\_\_\_\_ (電子媒体の種類、数を示す)。  
配列表に関する補充欄に示すように、コンピュータ読み取り可能な形式による配列表又は配列表に関連するテーブルを含む。 (実施細則第802号参照)
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
 

<input checked="" type="checkbox"/>	第I欄	国際予備審査報告の基礎
<input type="checkbox"/>	第II欄	優先権
<input type="checkbox"/>	第III欄	新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
<input checked="" type="checkbox"/>	第IV欄	発明の単一性の欠如
<input checked="" type="checkbox"/>	第V欄	PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
<input type="checkbox"/>	第VI欄	ある種の引用文献
<input type="checkbox"/>	第VII欄	国際出願の不備
<input type="checkbox"/>	第VIII欄	国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 14.05.2004	国際予備審査報告を作成した日 10.11.2004	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員)  齊 藤 真 由 美	4B 8931
電話番号 03-3581-1101 内線 3448		

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (2004年1月)

第I欄 報告の基礎

1. この国際予備審査報告は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎とした。

☐ この報告は、\_\_\_\_\_ 語による翻訳文を基礎とした。  
それは、次の目的で提出された翻訳文の言語である。

- ☐ PCT規則12.3及び23.1(b)にいう国際調査  
☐ PCT規則12.4にいう国際公開  
☐ PCT規則55.2又は55.3にいう国際予備審査

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

☒ 出願時の国際出願書類

☐ 明細書

第 \_\_\_\_\_ ページ 出願時に提出されたもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ\* 付かで国際予備審査機関が受理したもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ\* 付かで国際予備審査機関が受理したもの

☐ 請求の範囲

第 \_\_\_\_\_ 項 出願時に提出されたもの  
第 \_\_\_\_\_ 項\* PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
第 \_\_\_\_\_ 項\* 付かで国際予備審査機関が受理したもの  
第 \_\_\_\_\_ 項\* 付かで国際予備審査機関が受理したもの

☐ 図面

第 \_\_\_\_\_ ページ/図 出願時に提出されたもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ/図\* 付かで国際予備審査機関が受理したもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ/図\* 付かで国際予備審査機関が受理したもの

☐ 配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. ☐ 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図  
☐ 配列表(具体的に記載すること) \_\_\_\_\_  
☐ 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること) \_\_\_\_\_

4. ☐ この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図  
☐ 配列表(具体的に記載すること) \_\_\_\_\_  
☐ 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること) \_\_\_\_\_

\* 4. に該当する場合、その用紙に“superseded”と記入されることがある。

第IV欄 発明の単一性の欠如

1. 請求の範囲の減縮又は追加手数料の納付の求めに対して、出願人は、

- ☐ 請求の範囲を減縮した。
- ☒ 追加手数料を納付した。
- ☐ 追加手数料の納付と共に異議を申立てた。
- ☐ 請求の範囲の減縮も、追加手数料の納付もしなかった。

2. ☐ 国際予備審査機関は、次の理由により発明の単一性の要件を満たしていないと判断したが、PCT規則68.1の規定に従い、請求の範囲の減縮及び追加手数料の納付を出願人に求めないこととした。

3. 国際予備審査機関は、PCT規則13.1、13.2及び13.3に規定する発明の単一性を次のように判断する。

- ☐ 満足する。
- ☒ 以下の理由により満足しない。

請求の範囲1-10、12-23、25-39に記載された発明は、高密度リポ蛋白中のコレステロールを簡便かつ正確に測定するための改良方法及びそのための測定試薬・キットを提供することを課題とする発明群である。

これに対し、請求の範囲11、24、40-42に記載された発明は、請求の範囲41に記載された化合物を提供することを課題とする発明群である。

両者は、異なる課題に関する発明群といえ、これらの発明群が単一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明であるとは認められない。

4. したがって、国際出願の次の部分について、この報告を作成した。

- ☒ すべての部分
- ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ に関する部分

## 第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	2、8-11、15、21-24、26-31、37-42	有 無
	請求の範囲	1、3-7、12-14、16-20、25、32-36	
進歩性 (IS)	請求の範囲	11、24、40-42	有 無
	請求の範囲	1-10、12-23、25-39	
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-42	有 無
	請求の範囲		

## 2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

- 文献1 : JP 08-116996 A (東洋紡績株式会社) 1996.05.14  
 文献2 : WO 97/40376 A1 (IATRON LAB. INC.) 1997.10.30  
 文献3 : JP 11-009300 A (IATRON LAB. INC.) 1999.01.19  
 文献4 : WO 95/24502 A1 (KYOWA MEDEX CO. LTD.) 1995.09.14

1. 請求の範囲1、3-7、12-14、16-20、25、32-36に係る発明は、国際調査で引用された文献1-3に記載の発明により新規性・進歩性を有しない。

文献1には、検体と、コレステロールエステル加水分解酵素及び(化学的に修飾された)コレステロール酸化酵素とを、陰イオン性界面活性作用を有する胆汁酸誘導体(デヒドロコール酸等)を含有する水性媒体中で反応させ、生成した過酸化水素を特徴とする高密度リポ蛋白(HDL)中のコレステロールを測定する方法、該測定方法に用いる試薬、該試薬は第一試薬、第二試薬からなり、第一試薬にはコレステロールエステル加水分解酵素、胆汁酸誘導体を含有し、第二試薬にはコレステロール酸化酵素又はコレステロール脱水素酵素を含有するもの、過酸化水素測定用試薬を第一試薬又は第二試薬に含有する高密度リポ蛋白(HDL)中のコレステロール測定用試薬(キット)が記載されている。

したがって、請求の範囲1、3-7、12-14、16-20、25、32-36に係る発明は、文献1記載の発明と実質的に同一と認める。

2. 請求の範囲2、8-10、15、21-23、26-31、37-39に係る発明は、国際調査で引用された文献1-3記載の発明により進歩性を有しない。

文献2(特に請求項1、6及び発明の詳細な説明中の背景技術参照)には、高密度リポ蛋白(HDL)中のコレステロールの特異的測定用試薬(キット)として、胆汁酸又はその塩、アルブミン、非イオン性界面活性剤、コレステロールエステル加水分解酵素、コレステロール酸化酵素及び過酸化水素測定用試薬を含有する試薬、

## 補充欄

いずれかの欄の大きさが足りない場合

## 第 V 欄の続き

胆汁酸としてはタウロコール酸、グリココール酸等の陰イオン性胆汁酸誘導体を用いることができること、該試薬を用いた高密度リポ蛋白(HDL)中のコレステロールの特異的測定方法として、コレステロールエステル加水分解酵素と、コレステロール酸化酵素と、胆汁酸(誘導体)とを、アルブミンが存在する条件下で接触させること、該方法すなわちアルブミンの存在下で被検体と酵素とを接触させることにより、被検体中のLDLコレステロール及びVLDLコレステロールと酵素との反応を阻害すると共に、HDLコレステロールと酵素の反応を阻害させずに進行させることができることが記載されている。

一般に、高密度リポ蛋白(HDL)中のコレステロール測定を正確に行うためには、検体中存在するLDLコレステロール及びVLDLコレステロールと酵素との反応ができるだけ無い(阻害される)状態であることが望ましいことは、本願出願当時周知事項である。

そうすると、文献1記載のHDL中のコレステロールを測定する方法及びそのための測定用試薬(キット)において、HDL中のコレステロール測定を正確に行う目的で、上記周知事項を適用すること、そして該周知事項すなわち被検体中のLDLコレステロール及びVLDLコレステロールと酵素との反応を阻害すると共にHDLコレステロールと酵素の反応を阻害させずに進行させようとして、文献2記載の発明を適用し、アルブミンの存在下で被検体と酵素とを接触させることは、当業者が容易に想到し得たことと認める。

また、コレステロールの特異的測定方法に用いる胆汁酸誘導体として、両面界面活性作用を有する $R1-CH_2-CH(R2)-CH_2-SO_3^-$  ( $R1$ は3-(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ基であり、 $R2$ は水素原子又は水酸基である)で表される化合物を適用できることは、文献3に記載されている。

そうすると、文献1記載のHDL中のコレステロールを測定する方法及びそのための測定用試薬(キット)において、コレステロールの特異的測定方法に用いる胆汁酸誘導体として、文献3記載の、両面界面活性作用を有する $R1-CH_2-CH(R2)-CH_2-SO_3^-$  ( $R1$ は3-(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ基であり、 $R2$ は水素原子又は水酸基である)で表される化合物を適用することにも、格別の困難性は認められない。

3. 請求の範囲11、24、40-42に記載された発明は、国際調査報告に記載された上記文献1-4の何れにも記載されておらず、新規性及び進歩性を有する。

**Translation**

PATENT COOPERATION TREATY

**PCT**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY**  
(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

531,316

PCT/JP2003/013259



Applicant's or agent's file reference 1513	<b>FOR FURTHER ACTION</b>		See Form PCT/IPEA/416
International application No. PCT/JP2003/013259	International filing date (day/month/year) 16 October 2003 (16.10.2003)	Priority date (day/month/year) 16 October 2002 (16.10.2002)	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12Q 1/60, 1/26, 1/32, 1/44, G01N 33/92, C07J 1/00			
Applicant KYOWA MEDEX CO., LTD.			

1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 8 sheets, including this cover sheet.

3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising:

a. ☐ (sent to the applicant and to the International Bureau) a total of \_\_\_\_\_ sheets, as follows:

☐ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions).

☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box.

b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of \_\_\_\_\_, containing a sequence listing and/or tables related thereto, in computer readable form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).

4. This report contains indications relating to the following items:

☒ Box No. I Basis of the report

☐ Box No. II Priority

☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

☒ Box No. IV Lack of unity of invention

☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

☐ Box No. VI Certain documents cited

☐ Box No. VII Certain defects in the international application

☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 14 May 2004 (14.05.2004)	Date of completion of this report 10 November 2004 (10.11.2004)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.

PCT/JP2003/013259

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the language, this report is based on the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

- ☐ This report is based on translations from the original language into the following language \_\_\_\_\_, which is language of a translation furnished for the purpose of:
- ☐ international search (under Rules 12.3 and 23.1(b))
  - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4)
  - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3)

2. With regard to the elements of the international application, this report is based on (replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):

- ☒ The international application as originally filed/furnished
- ☐ the description:
- pages \_\_\_\_\_, as originally filed/furnished
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:
- pages \_\_\_\_\_, as originally filed/furnished
- pages\* \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement) under Article 19
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:
- pages \_\_\_\_\_, as originally filed/furnished
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- ☐ a sequence listing and/or any related table(s) – see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/figs \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing (specify): \_\_\_\_\_
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify): \_\_\_\_\_

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/figs \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing (specify): \_\_\_\_\_
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify): \_\_\_\_\_

\* If item 4 applies, some or all of those sheets may be marked "superseded."

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.

PCT/JP2003/013259

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☒ In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:
- ☐ restricted the claims.
  - ☒ paid additional fees.
  - ☐ paid additional fees under protest.
  - ☐ neither restricted nor paid additional fees.
2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is
- ☐ complied with.
  - ☒ not complied with for the following reasons:  
See supplemental sheet

4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:

☒ all parts.

☐ the parts relating to claims Nos. \_\_\_\_\_



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Publication No.

PCT/JP 93/13259

## Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV. 3.

The inventions set forth in claims 1-10, 12-23 and 25-39 are a group of inventions which address the problem of offering an improved method for simple and accurate measurement of high-density lipoprotein-bound cholesterol, and measurement reagents and kits for the purpose thereof.

By contrast, the inventions set forth in claims 11, 24 and 40-42 are a group of inventions which address the problem of offering compounds described in claim 41.

The two groups of inventions address different problems; therefore, these groups of inventions do not constitute a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.

PCT/JP 03/13259

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	2, 8-11, 15, 21-24, 26-31, 37-42	YES
	Claims	1, 3-7, 12-14, 16-20, 25, 32-36	NO
Inventive step (IS)	Claims	11, 24, 40-42	YES
	Claims	1-10, 12-23, 25-39	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-42	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

Document 1: JP 08-116996 A (Toyobo Co., Ltd.), 14 May 1996

Document 2: WO 97/40376 A1 (Iatron Lab. Inc.), 30 October 1997

Document 3: JP 11-009300 A (Iatron Lab. Inc.), 19 January 1999

Document 4: WO 95/24502 A1 (Kyowa Medex Co., Ltd.), 14 September 1995

1. The inventions set forth in claims 1, 3-7, 12-14, 16-20, 25 and 32-36 are not novel and do not involve an inventive step in the light of inventions disclosed in documents 1-3, cited in the international search report.

Document 1 discloses a method for measuring high-density lipoprotein (HDL) cholesterol characterized in that the specimen to be tested is reacted with cholesterol ester hydrolase and (chemically modified) cholesterol oxidase in an aqueous medium containing a bile acid derivative having an anionic surfactant action (such as dehydrocholic acid), and the hydrogen peroxide produced is measured, and also discloses reagents (a kit) for measuring high-density lipoprotein (HDL) cholesterol which contain reagents used in said method of measurement, with

said reagents comprising a first reagent and a second reagent, wherein the cholesterol ester hydrolase and the bile acid derivative are contained in the first reagent, the cholesterol oxidase or cholesterol dehydrogenase is contained in the second reagent, and the reagent for measuring hydrogen peroxide is contained in the first reagent or the second reagent.

Therefore, the inventions set forth in claims 1, 3-7, 12-14, 16-20, 25 and 32-36 are substantially the same as the inventions disclosed in document 1.

2. Claims 2, 8-10, 15, 21-23, 26-31 and 37-39 do not involve an inventive step in the light of inventions disclosed in documents 1-3, cited in the international search report.

Document 2 (see especially claims 1 and 6 and the section on background art in the detailed description of the invention) discloses reagents containing a bile acid or salt thereof, albumin, a non-ionic surfactant, cholesterol ester hydrolase, cholesterol oxidase and a reagent for measuring hydrogen peroxide, as reagents specific for the measurement of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol (kit), and indicates that an anionic bile acid derivative such as taurocholic acid or glycocholic acid can be used as the bile acid; it also discloses a method for specific measurement of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol using said reagents wherein the cholesterol ester hydrolase, cholesterol oxidase and bile acid (derivative) are brought into contact with the specimen in the presence of albumin, and indicates that by this method, namely bringing the test specimen into contact with the enzymes in the presence of albumin, it is possible to inhibit reaction between the

enzymes and LDL-cholesterol and VLDL-cholesterol in the specimen while reaction between the enzymes and HDL-cholesterol proceeds unimpeded.

It was well known in the art at the time of filing the present application that in general in order to measure high-density lipoprotein (HDL) cholesterol reliably, conditions in which there is as nearly as possible no reaction of the enzymes with LDL cholesterol and VLDL cholesterol present in the specimen (inhibition) are desirable.

Given this a person skilled in the art could easily conceive of applying the invention disclosed in document 2, and bring the enzymes and the specimen into contact in the presence of albumin, in the method for measuring high-density lipoprotein (HDL) cholesterol and measurement reagents (kit) for this purpose disclosed in document 1, applying the aforementioned commonly known fact so as to ensure the aforementioned conditions, namely to inhibit reaction between the enzymes and LDL-cholesterol and VLDL-cholesterol in the specimen, while allowing the reaction between the enzymes and HDL-cholesterol to proceed unimpeded, with the object of accurate measurement of HDL cholesterol.

In addition, document 3 discloses the possibility of using a compound represented by  $R_1-CH_2-CH(R_2)-CH_2-SO_3-$  ( $R_1$  is a 3-(3-cholamidopropyl)dimethylammonio group and  $R_2$  is a hydrogen atom or a hydroxyl group) which acts as an amphoteric surfactant, as a bile acid derivative used in a specific method for measuring cholesterol.

Given this, using a compound represented by  $R_1-CH_2-CH(R_2)-CH_2-SO_3-$  ( $R_1$  is a 3-(3-cholamidopropyl)dimethylammonio group and  $R_2$  is a hydrogen atom or a hydroxyl group) which acts as an amphoteric surfactant, disclosed

in document 3 as a bile acid derivative used in a specific method for measuring cholesterol, in the method for measuring HDL-cholesterol and measurement reagents (kit) for this purpose disclosed in document 1, also does not involve any special difficulty.

3. The inventions set forth in claims 11, 24 and 40-42 are not disclosed in any of documents 1-4 above, cited in the international search report, and are novel and involve an inventive step.